

(2) HEV 感染及び HEV スクリーニングについて

日本赤十字社中央血液研究所 感染症解析部

松林 圭二

日赤中央血液研究所の松林です。本日はこのような機会を与えていただきありがとうございます。血液センターでは、本年の8月に、全国すべての献血血液に対して、E型肝炎ウイルス(HEV)の核酸増幅検査を導入しました。今日はHEV感染についての概要と今回導入したHEV NATスクリーニングについてお話させていただきます。

これが今日お話しさせていただく内容になります。

【スライド1】

第19回東京都輸血療法研究会
2020年11月30日

輸血療法Q&A
HEV感染及びHEVスクリーニングについて

日本赤十字社 中央血液研究所 感染症解析部
松林圭二

1

【スライド2】

本日の内容

1. E型肝炎ウイルス(HEV)の概要
 1. HEVウイルスの特徴
 2. E型肝炎の症状・臨床経過
 3. HEV感染・E型肝炎の発生状況
2. HEVスクリーニング
 1. HEV輸血感染の現状
 2. HEV輸血感染症対策
 3. HEVスクリーニングの現状

2

【スライド3】

ヒトの肝炎発症には様々な原因がありますが、ウイルス感染が原因となるものがウイルス性肝炎で、肝炎ウイルスとしては、現在ここに示すA型からE型まで5つが知られています。HEVはエンベロープがない、小型の球形ウイルスで、1本鎖の線状RNAをゲノムとして持っています。通常は経口感染して急性肝炎を引き起こしますが、慢性肝炎も知られるようになりました。他の肝炎ウイルスと異なる最大の特徴は、HEVは人獣共通感染症ウイルスであることです。

ヒト肝炎ウイルス

| ウイルス | HAV | HBV | HCV | HDV | HEV |
|------------|-----------------|---------|-----------|------------------|-----------------------------------|
| 科 | ピコルナ | ヘパドナ | フラビ | デカブス科に属するRNAウイルス | ヘペ |
| 遺伝子の種類 | RNA | DNA | RNA | RNA | RNA |
| 遺伝子構造 | 線状一本鎖 | 環状二本鎖 | 線状一本鎖 | 環状一本鎖 | 線状一本鎖 |
| 遺伝子サイズ(kb) | 7.5 | 3.2 | 9.5 | 1.8 | 7.2 |
| 遺伝子型 | 3 | 8 | 6 | 3 | 8 |
| 遺伝子鎖 | | | | | 3/4 |
| 遺伝子のウイルス | | | | | + |
| エンベロープ | 無 | 有 | 有 | 有 | 有/無 |
| 感染経路 | 経口 ¹ | 血液・体液 | 血液・体液 | 血液・体液 | 経口 ¹ |
| 潜伏期間(日数) | 15-50 | 40-160 | 14-180 | 40-180 | 15-64 |
| 症状 | 急性 | 急性・慢性 | 急性・慢性 | 急性・慢性 | 急性 |
| 慢性化/致死率(%) | 無 / 0.5 | 有 / 1-2 | 有 / 0.5-1 | 有 / 高 | 有 ² / 1-2 ³ |
| ワクチン | 有 | 有 | 無 | 有 | 有 |
| がん化 | 無 | 有 | 有 | 有 | 無 ⁴ |

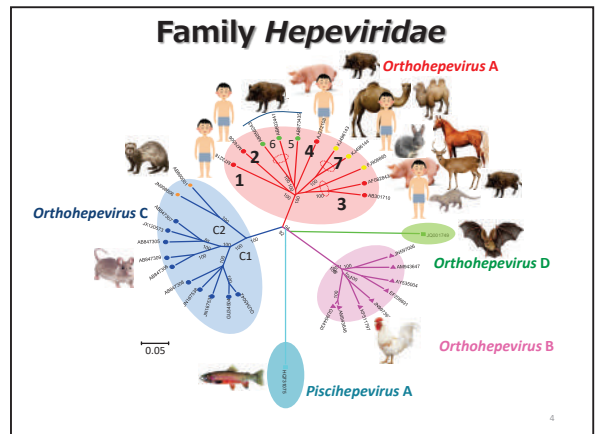
HEVは人獣共通感染症ウイルス

¹血液感染例も確認されている。 ²臓器移植患者において高率に慢性化。 ³妊婦(妊娠第三期)においては20%以上。 ⁴1例報告あり

Isa K Mushahwar, Journal of Medical Virology 80:646-658 (2008), modified

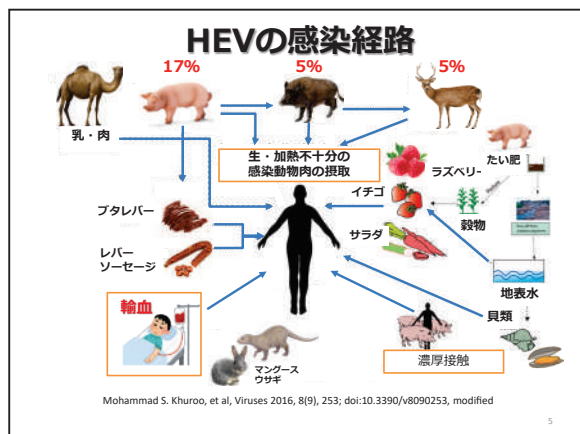
【スライド4】

これはヘペウイルス科の系統樹を示したものです。ヘペウイルス科には2つの属がありますが、オルソヘペウイルス属がいわゆるHEVと呼ばれています。オルソヘペウイルス属は様々な種類の動物に感染していますが、このうちヒトに感染するものは、オルソヘペウイルスAの8つGenotypeのうち、Genotype 1, 2, 3, 4, 7です。そして、Genotype 3, 4, 7については、ヒトだけでなく、ブタやイノシシ、シカなどの動物にも感染する人獣共通感染症ウイルスです。最近ではラットに感染するオルソヘペウイルスCがヒトに感染したという報告も香港から出ています。



【スライド5】

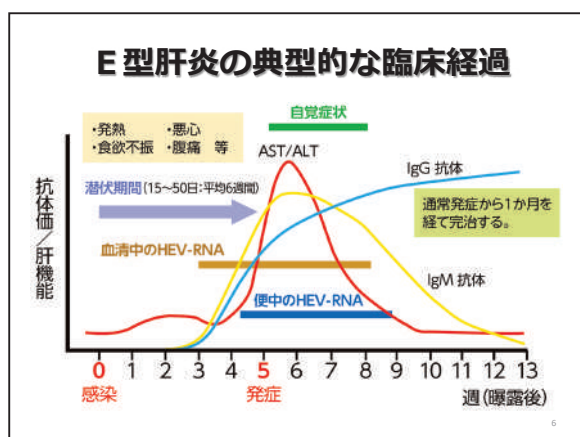
このような特性を持つ HEV ですので、衛生環境の整備された地域においては、HEV のヒトへの感染経路は、HEV に感染したこれらの動物の肉を、生あるいは加熱不十分のまま食して経口感染することが主要なルートとなります。国内の E 型肝炎届出報告では感染源がわかっているものとしては、ブタが最も多く、届出数の 17%、次いでイノシシとシカが同等で 5% となっています。



HEV は感染した動物の糞便にも大量に排泄されますので、糞便で汚染された灌漑用水で育てられた生鮮野菜や果物、さらには汚染水が河川や海に流入すると、貝類に HEV が濃縮されるため、これらの貝類を生で食べると感染することも考えられます。濃厚接触でも感染する可能性があります。HEV 感染の場合、ヒト-ヒト感染は、輸血や移植を介して起こることが知られています。

【スライド6】

ここに典型的な E 型肝炎の臨床経過を示しますが、感染してから発症するまでは、約 2 週間から 6 週間あります。症状としては発熱、食欲不振、悪心、腹痛、黄疸等で、いわゆる一般的な肝炎症状で、他の肝炎との鑑別は症状だけからでは困難です。HEV は感染後 2 - 3 週で肝臓で増え始め、発症直前にピークを迎えます。HEV RNA は感染後約 3 週間で血中に、その後便中にも検出されるようになります。その頃、HEV 特異的な IgM、IgG が血中に検出されるようになり、IgM は数か月で、IgG は約 1 / 3 の方は数年で血中から消えてしまいます。



【スライド7】

E型肝炎は通常は一過性の急性肝炎です。しかし、HEVが6か月以上にわたって持続感染し、肝炎が慢性化する場合があります。肝機能検査値はそれほど高くないのですが、肝臓の繊維化が急速に進み、亡くなる方もいます。臓器移植患者や化学療法中の免疫抑制状態にある患者に高頻度で見られ、このような患者においては感染者の約半数で慢性化します。感染経路は通常

慢性E型肝炎

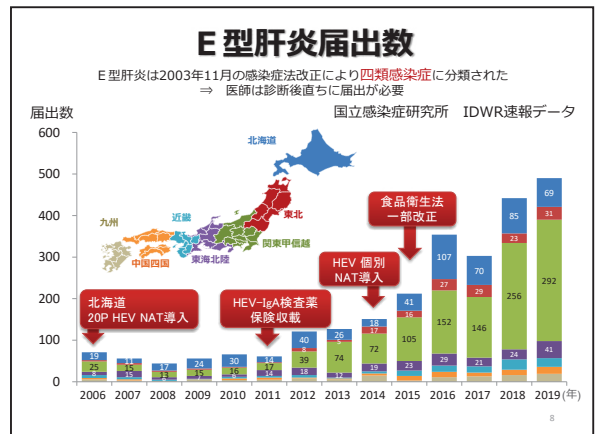
- ALT高値、HEV RNA陽性が6か月以上持続
- 肝臓の線維化が急速に進行
- 移植患者（肝臓、腎臓、肺、幹細胞）などの免疫抑制状態下の患者に多い
 - 臓器移植患者のHEV RNA陽性率 0.9 - 3.5%
 - HEV感染肝移植患者の 66% (56/85名)
 - HEV感染幹細胞移植患者の 63% (5/8名)
- 感染経路はブタ・野生動物の肉や貝の摂取、感染者からの輸血、臓器移植

N Kamar, et al, C Microbiol Rev 2014;27:116-138

と同じですが、輸血感染例も確認されており、HEV感染者から移植された臓器そのもので感染した症例もあります。

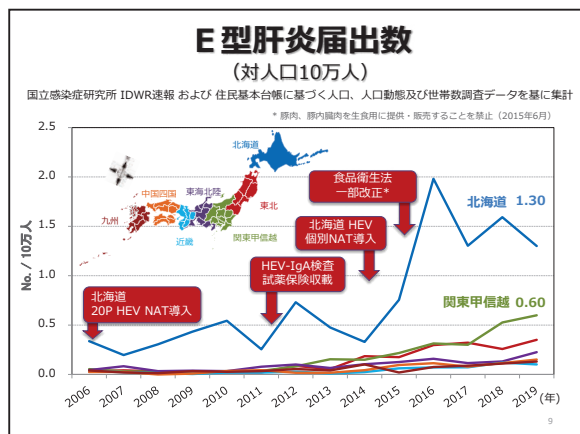
【スライド8】

さて、次に、HEV感染状況についてお話しします。日本ではE型肝炎は四類感染症に指定されており、E型肝炎あるいはHEV感染を診断した医師は直ちに国へ報告することが義務付けられています。このグラフは、その届出数を地域ごとに分けて、年次推移を見たものです。輸血感染が複数確認された北海道では2005年から研究的に献血血液のHEV RNAスクリーニングが開始されました。当時はE型肝炎についてはよく知られておらず、報告数も少なかったのですが、診断薬が保険収載された2011年以降は増加傾向に転じ、現在では年間500例近くの届出があります。届出数自体は関東甲信越地区が半数以上を占め、とくにここ東京が最も届け出数が多くなっています。次いで北海道、東海北陸となっ



【スライド9】

この届出数を人口 10 万人当りで集計するとこのようになります。北海道地区は2005 年当時から頻度が高く、この状況は現在も続いており、2 位の関東甲信越地区の 2 倍の頻度となっています。つまり、わが国では北海道は HEV 感染の侵淫地域と言えます。



【スライド10】

世界的にみると、E型肝炎には二面性がみられます。すなわち、衛生環境の悪い途上国では、Genotype 1や2のHEVで汚染された、水や食物を介した大規模な集団感染が起きます。感染者は若年者に多く、妊婦が感染すると約2割が劇症肝炎で死亡すると言われています。

一方、日本を含む先進国では、Genotype 3あるいは4に感染したブタ、イノシシ、シカなどの動物の肉を加熱不十分のまま食して感染する、散発的な小規模発生がみられます。中高年男性に多く、多くは不顕性感染で終わります。発症する場合は急性肝炎ですが、免疫抑制状態下では慢性化します。また、症状としては肝炎だけでなく、神経症状などの肝外病変も報告されています。

E型肝炎の二面性

- **途上国**
 - ・ 大規模集団発生
 - ・ HEVに汚染された飲料水や食物を介した経口感染 (遺伝子型 1, 2)
 - ・ 若年者での感染が多い
 - ・ 妊婦の感染では15-25%が劇症肝炎により死亡
- **先進国**
 - ・ 散発性の小規模発生
 - ・ 人獣共通感染症 (リザーバー: ブタ, イノシシ, シカなど)
 - ・ 感染動物肉の摂食による経口感染 (遺伝子型 3, 4)
 - ・ 中高年男性での感染が多い
 - ・ 不顕性感染が多い
 - ・ 免疫抑制状態下の患者で慢性感染
 - ・ 肝外病変

10

【スライド 11】

以上のE型肝炎の特徴については、日赤から提供している輸血情報1803-158にまとめられていますので、ご覧になっていただければと思います。

E型肝炎の特徴

輸血情報 1803-158

発生状況

- ・東日本からの発生報告が大半を占め、都道府県別では、東京 から最も多く報告されている。
- ・ヒトに感染するGenotype (遺伝子型) は主に4つあり、日本に土着しているHcVはGenotype 3 (G3)とGenotype 4 (G4)で、後者は北海道に多く見られる。

症状及び典型的な臨床経過

- ・潜伏期間は平均6週間である。
- ・感染した場合、大多数は自覚症状のまま治癒する。
- ・発症初期には軽度の発熱、食欲不調、悪心、嘔吐が数日間続き、場合によっては腹痛、かゆみ、皮膚発疹又は関節痛を伴う。
- ・黄疸、肝臓大が出現する。
- ・まれに、急性肝炎が重症化して慢性肝炎に至る場合があり、死亡例も見られる。
- ・G3に比べG4による感染の方が重症化しやすい¹⁾。

感染経路

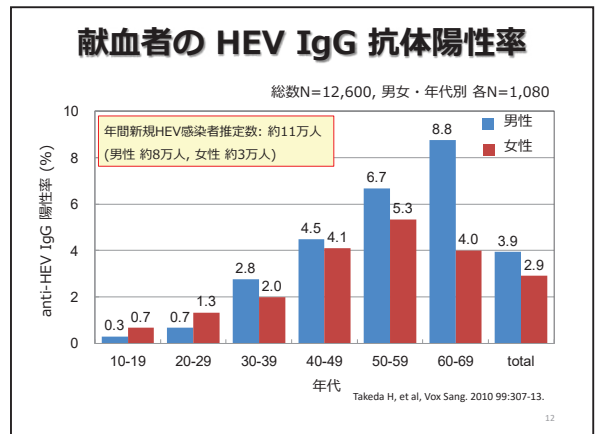
経口感染: 加熱不十分なアタ、イタシ、シカ等の内臓生肉類の摂取による。(先述国)
 水虫感染: 糞便中に排泄されたウイルスによる糞口感染が多い。(同上)
 輸血感染: 国内では、初めて感染が産生された2002年から2017年までに27件報告されている。
 (臓器移植例、血液透析症例で蔓延感染産例が5例²⁾)

| アタ肉 | イタシ肉 | シカ肉 | その他(加熱不十分肉、魚、鳥肉) | 不明/記載なし |
|-----------|---------|---------|------------------|-----------|
| 121例(17%) | 34例(5%) | 32例(5%) | 112例(16%) | 411例(59%) |

1) Takahashi M, Okamoto H. Features of hepatitis E virus infection in humans and animals in Japan. Hepatology Research, 44, 43 -58, 2014
 2) Satake M, Matsubayashi K, Hoshi Y, et al: Unique clinical courses of transfusion-transmitted hepatitis E in patients with immunosuppression. Transfusion, 57, 280-288, 2017
 3) 輸血情報 1610-148

【スライド 12】

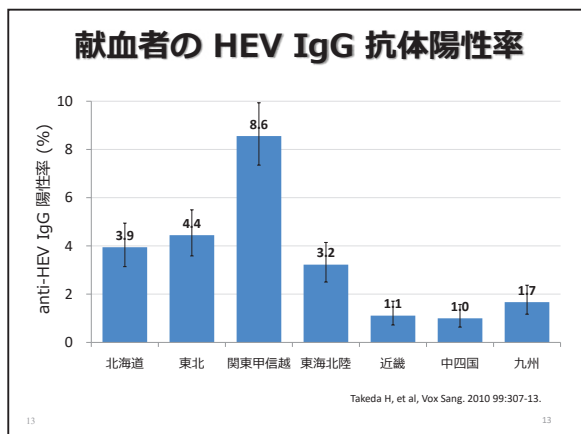
献血者の HEV 感染実態についてお話しします。北海道赤十字血液センターでは、2002年から献血者における HEV 感染の実態調査を調べてきました。これは 2005-2006 年当時に全国 7 地域の基幹センターで、男女、6 年代別、各 1080 名ずつ合計 12600 名の献血者について HEV IgG 抗体陽性率を調べたものです。



男女とも加齢とともに陽性率は直線的に上昇しており、全国平均で男性 3.9%、女性 2.9%と男性優位の傾向がみられました。抗体上昇率から年間の HEV 新規感染者数を推定すると、男性約 8 万人、女性約 3 万人、合計約 11 万人が毎年感染しているということになります。

【スライド13】

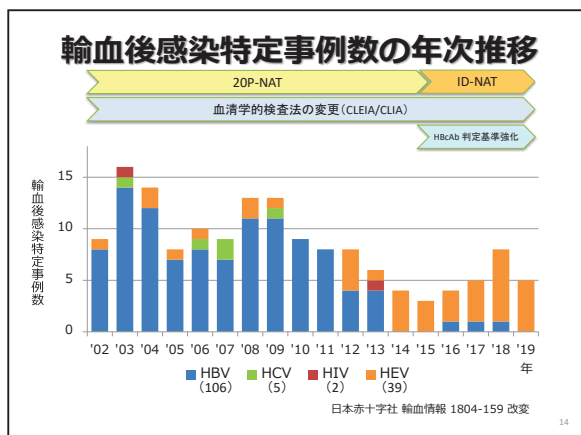
先ほどのデータを地域別に集計すると興味深い結果が得られました。もっとも陽性率が高かったのは関東甲信越地域でしたが、東日本で高く、西日本で低いという、東高西低の地域差がみられました。



【スライド14】

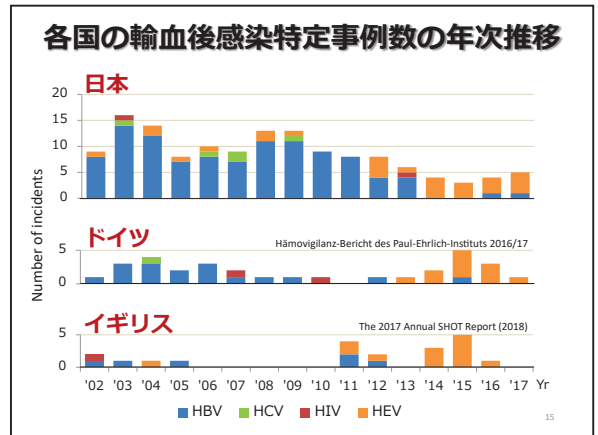
さて、このグラフは輸血ウイルス感染症として重要である HBV、HCV、HIV、そして HEV の輸血感染特定事例数の年次推移を、感染症検査法の変遷とともに示したものです。

従来は HBV の輸血感染が大きな問題になっておりましたが、NAT や血清学的検査の高感度化、そして HBc 抗体の基準の厳格化によってほとんどなくなりました。HEV については、2002 年に初めて輸血感染症例が北海道で確認されましたが、研究的な HEV NAT が実施された 2006 年からは、北海道地区での輸血感染は報告されておられません。ところが、HEV IgA 抗体の診断薬が保険収載された 2011 年以降、北海道以外の地域から HEV 輸血感染の自発報告が増えてきています。



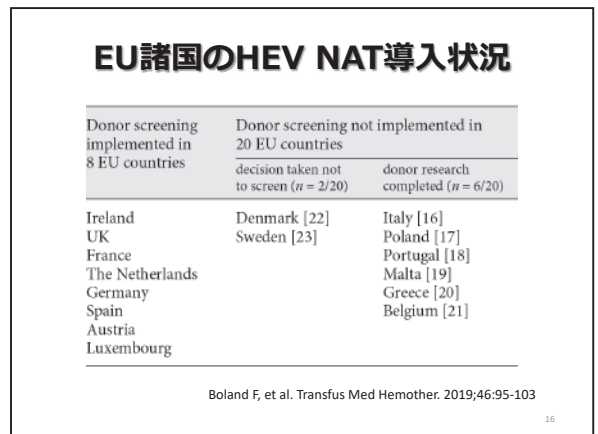
【スライド 15】

このような輸血感染症のウイルス別の発生状況はドイツやイギリスでも同様の傾向がみられます。海外でも従来は輸血感染する主要なウイルスであったHBV、HCV、HIVの輸血感染症例数はほとんど発生しなくなった一方で、HEVの症例が近年増加傾向にあります。このため、HEVの輸血感染防止対策が必要となってきています。



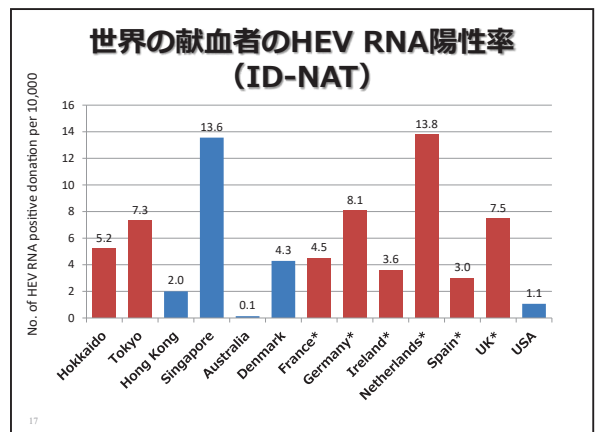
【スライド 16】

HEV輸血感染防止対策としては、NATが最も効果的であると考えられています。すでにEU諸国のうち、アイルランド、イギリス、フランス、オランダ、ドイツ、スペイン、オーストラリア、ルクセンブルクでは、プール検体を用いたHEV NATを実施しています。



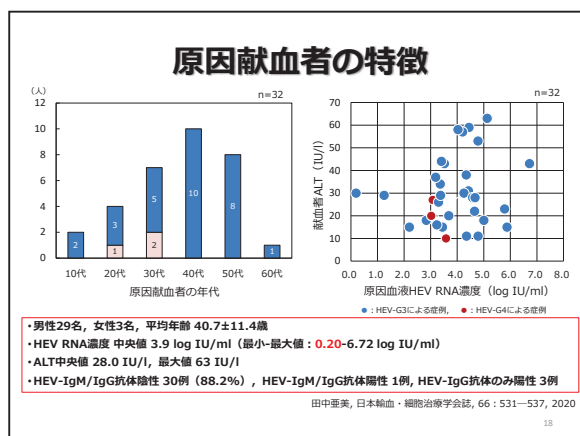
【スライド 17】

これは各国の献血者の個別 NAT による HEV RNA 陽性率を示したもので、数値は 1 万人当りの陽性者数を示しています。赤色で示した国は、すでに HEV NAT の導入が決定している国です。オーストラリアやアメリカはでは陽性率が低いですが、EU 諸国では比較的高い陽性率を示しています。



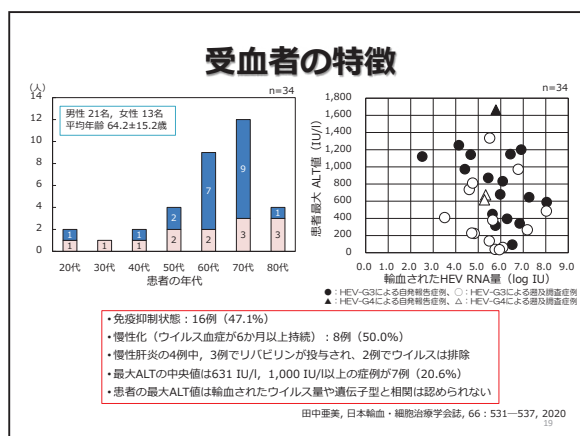
2019年までにHEV輸血感染が確認された献血血液32例についての解析結果を示します。性別は男性が9割で、40代-50代が半数を占めています。献血時のALT値とHEV RNA濃度には関連性は見られず、約9割はHEV特異IgM/IgG抗体は検出されないため、感染初期の時期に献血したと考えられました。

【スライド18】



一方、HEV陽性血を輸血された患者は2例は分割製剤が製造されたため34名となります。高齢者が多いです。このうち約半数の方が免疫抑制状態にあり、さらにその半数が肝炎が慢性化していました。慢性化した患者4名には抗ウイルス薬であるリバビリンが投与され、2名でHEVが排除されました。患者の最大ALT値は輸血されたウイルス量や遺伝子型と相関は認められませんでした。

【スライド19】



【スライド20】

こういう状況を踏まえて、2018年に、日赤では輸血用血液製剤のHEV安全対策について検討し、これまで実施してきたHBV/HCV/HIVの3ウイルスのマルチプレックスNATにHEVを追加した4価NATを導入することが最も適切との判断し、2020年8月導入に向けて準備してきました。導入まではHEV輸血感染リスクについてポスター等で献血者へ周知しました。

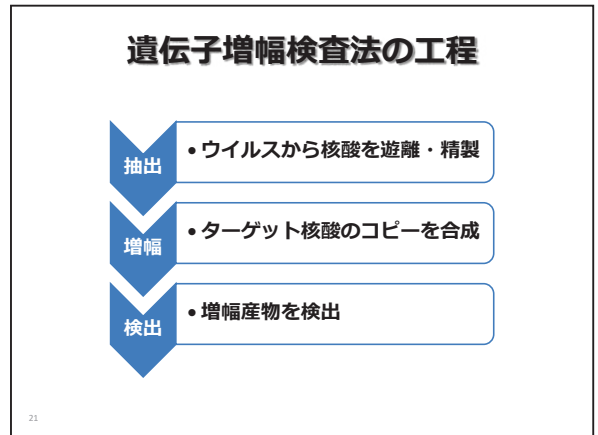
輸血用血液製剤のHEV安全対策について

平成30年(2018年)度第1回薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会

- 輸血用血液製剤によるHEV感染の抜本的な再発防止対策は、すべての献血血液に対するHEVスクリーニングの導入であり、4価NATの導入が最も適切だと考えられる。
- 4価NAT導入までの期間は、献血者に対するHEVの経口感染リスクの注意喚起による自主的な献血辞退を促す対策を導入することとし、献血会場におけるポスター掲示等により、加熱不十分な豚肉、猪肉、鹿肉、ジビエ等の喫食によるHEV感染リスク及び献血血液(輸血を受ける患者)への影響についての周知を本年3月より開始している。

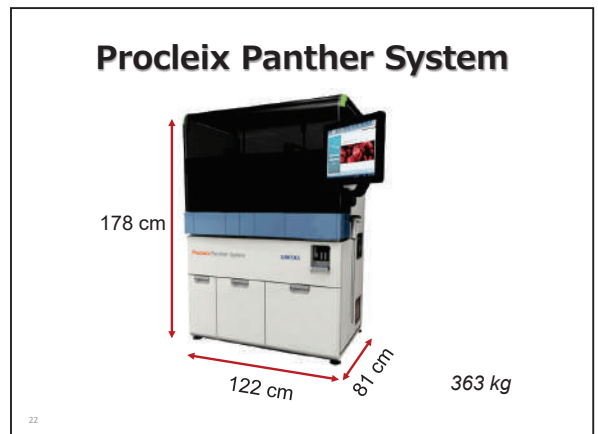
【スライド 21】

一般的に遺伝子増幅検査法NATの工程は、検体からの核酸抽出、ターゲット核酸の増幅、つまりコピーの合成、そして増幅した核酸の検出の3ステップからなります。



【スライド 22】

これらすべての工程を完全全自動で検査するシステムが、Grifols社のパンサーシステムです。このようなサイズで大変コンパクトにできています。日赤では約50台導入してスクリーニングを行っています。



【スライド 23】

パンサーシステムはTMA法という遺伝子増幅方法を応用していますが、これはPCRのように温度を上下する必要はなく、等温反応で増幅できます。検出シグナルは2種類だけですが、HBV/HCV/HIVのいずれかと、これとは別にHEVは独立して検出することができる、マルチプレックス検出システムです。8時間で275検体の検査が可能です。

Procleix Panther System

- **全自動核酸増幅検査システム**
 - TMA法を用いたワンステップ等温核酸増幅法
 - 抽出・増幅・検出のすべての工程を1本のチューブ内で実施
 - マルチプレックス検出システム（シグナルは2種類のみ）
- **最適化されたワークフローと処理能力**
 - ランダムアクセス
 - 連続検体投入が可能
 - 1検体の処理時間は3.5時間、以後は5検体/5分間
 - 8時間の処理能力は275検体
- **プロセスコントロール**
 - 各部のシステムがモニタリング（温度、試薬や消耗品等の残量、試薬の有効期限など）

【スライド24】

HEVの検出感度は4.8IU/mLと非常に高感度で、ヒトに感染する主要なHEV遺伝子型1～4をすべて検出可能です。2020年8月5日から全国すべての献血血液について検査を開始しました。

HEV ID-NAT 検査

- マルチプレックスTMA(NAT)システムを用いて、HBV、HCV、HIV-1/2 と同時に HEV を検出
- 感度：4.8 IU/mL
- 特異性：ヒトに感染する主要なHEV遺伝子型（1, 2, 3, 4型）の検出が可能
- 2020年8月5日から全国すべての献血血液について検査開始

24

スライド 25～28は論文投稿中のデータを含むため掲載しておりません。

【スライド29】

まとめになります。人獣共通感染症ウイルスである E 型肝炎ウイルス (HEV) は、近年、先進諸国において輸血感染症ウイルスとして認識されつつあります。国内での E 型肝炎届出数は増加傾向にあり、関東地区が最も多いです。

日赤では HEV 輸血感染予防策として、2020年8月からすべての献血血液について個別 HEV NAT を導入しました。

以上となります。ご清聴ありがとうございました。

まとめ

- 人獣共通感染症ウイルスであるE型肝炎ウイルス (HEV) は、近年、先進諸国において輸血感染症ウイルスとして認識されつつある。
- 国内でのE型肝炎届出数は増加傾向にあり、関東地区が最も多い。
- 日赤ではHEV輸血感染予防策として、2020年8月からすべての献血血液について個別HEV NATを導入した。

29